

**Avaliação da resistência de
bovinos de diferentes grupos
genéticos ao carrapato e à
babesiose**

Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 9

Avaliação da resistência de bovinos de diferentes grupos genéticos ao carrapato e à babesiose

Luciana Correia de Almeida Regitano

Márcia Cristina de Sena Oliveira

Maurício Mello de Alencar

Minos Esperândio Carvalho

Rogério Andréo

Ingritt Carolina Moreira

Talita A. Néo

Waldomiro Barioni Jr.

Ana Mary da Silva

Embrapa Pecuária Sudeste

Rod. Washington Luiz, km 234

Caixa Postal 339

Fone: (16) 3361-5611

Fax: (16) 3361-5754

Home page: www.cppse.embrapa.br

E-mail: sac@cppse.embrapa.br

Comitê de Publicações da Unidade

Presidente: Alberto C. de Campos Bernardi

Secretário-Executivo: Edison Beno Pott

Membros: Carlos Eduardo da Silva Santos, Maria Cristina C. Brito,

Odo Primavesi, Sônia Borges de Alencar

Revisor de texto: Edison Beno Pott

Normalização bibliográfica: Sônia Borges de Alencar

Fotos da capa:

Editoração eletrônica: Maria Cristina Campanelli Brito

1ª edição on-line (2006)

Todos os direitos reservados.

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei no 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação - CIP

Embrapa Pecuária Sudeste

Luciana Correia de Almeida Regitano

Avaliação da resistência de bovinos de diferentes grupos genéticos ao carrapato e à babesiose/ Luciana Correia de Almeida Regitano [et al.] -- São Carlos: Embrapa Pecuária Sudeste, 2006.

48 p.; 21 cm. -- (Embrapa Pecuária Sudeste. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 9).

ISSN: 1677-891X

1. Resistência - Grupos genéticos - Carrapatos - Babesiose I. . IV. Título. V. Série.

CDD

© Embrapa 2006

Sumário

1.Introdução	9
2. Material e Métodos	11
3. Resultados e Discussão	19
4. Considerações Finais	37
5. Trabalhos publicados	38
6. Treinamento de recursos humanos	41
7. Referências Bibliográficas	42

Avaliação da resistência de bovinos de diferentes grupos genéticos ao carrapato e à babesiose

Luciana Correia de Almeida Regitano

Márcia Cristina de Sena Oliveira

Maurício Mello de Alencar

Minos Esperândio Carvalho

Rogério Andréo

Ingritt Carolina Moreira

Talita A. Néo

Waldomiro Barioni Jr.

Ana Mary da Silva

Resumo

O carrapato *Boophilus microplus* e as doenças por ele transmitidas constituem algumas das principais causas de prejuízos para os criadores de bovinos em áreas tropicais e em áreas subtropicais do mundo, quer por sua ação espoliativa, quer por sua atuação como vetor de doenças, ou ainda pelos custos econômicos e ambientais do controle químico. A variabilidade genética de resistência ao carrapato tem sido verificada em diversos grupos genéticos, o que demonstra que há potencial para o melhoramento dessa característica nos bovinos. No presente projeto, oito marcadores moleculares, situados próximos de genes do sistema imunológico, foram estudados em 708 fêmeas pertencentes aos grupos genéticos Nelore (NI), $\frac{1}{2}$ Aberdeen-Angus + $\frac{1}{2}$ Nelore (TA), $\frac{1}{2}$ Canchim + $\frac{1}{2}$ Nelore (RC) e $\frac{1}{2}$ Simental + $\frac{1}{2}$ Nelore (TS), as quais foram avaliadas quanto à resistência ao carrapato, sob infestação natural, de julho de 2003 a dezembro de 2004.

¹Pesquisadora da Embrapa Pecuária Sudeste. Rodovia Washington Luiz, km 234, Caixa Postal 339, 13560-970, São Carlos, SP. Endereço eletrônico: ppaolive@cnpse.embrapa.br.

²Pesquisador da Embrapa Pecuária Sudeste. Rodovia Washington Luiz, km 234, Caixa Postal 339, 13560-970, São Carlos, SP. Endereço eletrônico: fsouza@cnpse.embrapa.br.

³Prof. Dr., Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos - USP, Pirassununga, SP.

⁴Prof. Dr., Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos - USP, Pirassununga, SP.

Um subconjunto de animais foi também avaliado em quatro infestações artificiais. Os efeitos de grupo genético nas taxas de infecção por *Babesia bigemina* foram investigados no animal e no carrapato. Quando se consideraram as quatro infestações artificiais em conjunto, verificou-se que os animais dos grupos genéticos TA e TS apresentaram maior percentagem de recuperação, em comparação aos animais NI, enquanto os animais RC apresentaram taxa de recuperação intermediária, o que sugere maior resistência ao carrapato dos animais NI, resistência intermediária dos animais RC, e menor resistência dos bovinos dos grupos TA e TS. A estimativa de herdabilidade do número de carrapatos (0,15), apesar de baixa, indica que essa característica apresenta alguma variação genética, o que sugere a possibilidade de progresso genético pela seleção. A amplificação do DNA do parasita pela sequência de reação em cadeia da polimerase (PCR) e PCR "nested" (N-PCR) detectou que 100% dos animais (bezerras e vacas) foram positivos para *B. bigemina* em todos os grupos genéticos estudados, o que mostra que a maior resistência dos zebuínos às babesioses não deve ser interpretada como capacidade de se manterem livres ou com baixo nível de infecção. O fator que mais influenciou a presença de babesias no sangue foi a idade dos bovinos. Os marcadores próximos aos genes das interleucinas 2 e 4 exibiram associação com medidas de resistência aos carrapatos em animais submetidos à infestação natural. Nenhuma análise de associação entre genótipo marcador e taxa de infecção por *B. bigemina* pôde ser conduzida, uma vez que não houve variação na taxa de infecção.

texto em ingles

Abstract

Ticks (*Boophilus microplus*) and tick-born diseases are some of the major causes of economic losses in worldwide tropical and subtropical cattle production. Losses may be attributed to spoliation and to disease transmission, as well as to economic and environmental costs of chemical control. Genetic variability for tick resistance has been described in several bovine genetic groups, indicating the potentiality for genetic improvement of this characteristic in cattle. In this project, eight molecular markers, located close to genes of the immune system, were analyzed in 708 females from four genetic groups: Nelore, $\frac{1}{2}$ Aberdeen Angus + $\frac{1}{2}$ Nelore, $\frac{1}{2}$ Canchim + $\frac{1}{2}$ Nelore and $\frac{1}{2}$ Simmental + $\frac{1}{2}$ Nelore. Tick resistance was evaluated under natural infestation, from July 2003 to December 2004. A subset of the animals were also evaluated under artificial infestation in four occasions. Influence of genetic group in rates of *Babesia bigemina* infection was investigated in animals and in ticks. When all four tick artificial infestations were analyzed together, animals from the $\frac{1}{2}$ Aberdeen Angus + $\frac{1}{2}$ Nelore and $\frac{1}{2}$ Simmental + $\frac{1}{2}$ Nelore genetic groups had the highest recuperation percentage, compared to Nelore. The $\frac{1}{2}$ Canchim + $\frac{1}{2}$ Nelore group had intermediate recuperation percentage. From these results one can postulate that Nelore cattle have the highest resistance, while RC have intermediate resistance and TA and TS are more susceptible to ticks. Although heritability estimates for number of ticks were low (0,15), these estimates indicate that there is at least some genetic variation that would allow for genetic progress

under selection. Amplification of *B. bigemina* DNA by the combination of PCR and N-PCR was positive in 100% of the animals (calves and cows), in all the genetic groups analyzed, suggesting that the greater resistance of Zebu animals to babesiosis can not be interpreted as an ability to keep themselves free from or with low infection levels. Presence of parasites in bloodstream was particularly affected by cattle age. Molecular markers close to the genes for interleukins 2 and 4 were associated to measures of tick resistance under natural infestations. Associations between molecular markers and *B. bigemina* infection could not be investigated, since no variation for infection rate was detected.

1. INTRODUÇÃO

O carrapato *Boophilus microplus* e as doenças por ele transmitidas constituem algumas das principais causas de prejuízos para os criadores de bovinos em áreas tropicais e em áreas subtropicais do mundo. Os danos produzidos por carrapatos aos bovinos vão desde o efeito espoliativo provocado pela hematofagia até as lesões no couro e a transmissão de doenças (Gonzales, 1993). A tristeza parasitária dos bovinos é uma hemoparasitose causada por duas espécies do gênero *Babesia* (Starcovici, 1993), *Babesia bovis* e *Babesia bigemina*, e uma rickettsia, denominada *Anaplasma marginale* (Theiler, 1912). As babesioses bovinas são doenças amplamente disseminadas em países da América Latina, onde são transmitidas exclusivamente pelo carrapato *B. microplus* (Montenegro-James et al., 1995). No Brasil, apesar de não existirem dados que quantifiquem os prejuízos totais resultantes dessas parasitoses, estima-se que eles sejam substanciais, uma vez que, só no Estado do Rio Grande do Sul, as perdas anuais causadas apenas pelas babesioses foram estimadas em US\$ 99 milhões (Madruga, 1984).

Segundo Kuttler (1981), os países em desenvolvimento são os mais atingidos por endemias de babesioses e de infestações por carrapatos do gênero *Boophilus*. Esforços desses países em importar animais de maior potencial genético para a produção pecuária são, invariavelmente, prejudicados pela presença endêmica da babesiose bovina. A imunização de bovinos suscetíveis tem sido uma alternativa de controle das babesioses, porém ela não impede, com freqüência, a ocorrência de perdas significativas. Além disso, métodos

efetivos de controle desses hemoparasitas ainda não estão disponíveis (Palmer & McElwain, 1995). Com relação aos carrapatos, um dos mais graves inconvenientes do controle químico é o desenvolvimento de resistência aos carrapaticidas. Além disso, a inexistência de um plano nacional de controle do carrapato e a extensão de sua distribuição no território brasileiro são consideradas como obstáculos ao controle da tristeza parasitária dos bovinos por meio do combate ao vetor.

O aproveitamento da resistência natural dos bovinos aos carrapatos e às doenças por ele transmitidas tem sido adotado como método complementar aos métodos preventivos de combate ao carrapato em áreas de clima tropical. Diferentes níveis de resistência de bovinos ao *B. microplus*, tanto entre raças como dentro de raças, têm sido verificados (Wharton et al., 1970; Moraes et al., 1986; Oliveira et al., 1989; Gomes, 1992; Veríssimo et al., 1997; Andrade et al., 1998; Andrade et al., 2001). Este conhecimento torna-se importante alternativa para a implantação de práticas de melhoramento dos rebanhos.

A identificação de genes responsáveis pela resistência deve contribuir para aumentar a eficiência da seleção. Com o desenvolvimento das metodologias de análise molecular, genes para resistência têm sido identificados em espécies-modelo (Kemp et al., 1997, Bishop et al., 2002). Alguns genes que codificam componentes do sistema imunológico, tais como interleucinas, interferons e imunoglobulinas, têm potencial para associação com resistência a parasitas.

Diante do exposto e considerando a inexistência de dados precisos sobre os mecanismos envolvidos nas diferenças entre raças e seus cruzamentos quanto à suscetibilidade a esses parasitas, este projeto foi executado tendo por objetivos:

- Verificar a resistência de novilhas e de vacas cruzadas Canchim x Nelore, Aberdeen Angus x Nelore e Simental x Nelore ao carrapato *B. microplus*, em comparação com animais da raça Nelore.
- Verificar a taxa de infecção por *B. bigemina* em fêmeas da raça Nelore e em animais dos cruzamentos citados.
- Verificar a ocorrência de variação nas taxas de infecção por *B. bigemina* em teleóginas de *B. microplus* nos grupos genéticos citados, utilizando técnica de amplificação de DNA.
- Identificar regiões genômicas associadas a resistência do hospedeiro aos carrapatos e à *B. bigemina* nos diversos grupos genéticos, em infestações naturais.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Avaliação da variabilidade genética dos quatro grupos genéticos quanto às características de resistência ao carrapato

2.1.1. Taxa de infestação por *Boophilus microplus* sob condições naturais. Os dados utilizados neste experimento foram obtidos na Fazenda Canchim, da Embrapa Pecuária Sudeste, em São Carlos, SP.

Cada animal avaliado foi submetido a contagens (de uma a dez) dos ectoparasitas, entre julho de 2003 e dezembro de 2004, em 708 fêmeas dos grupos genéticos Nelore (NI), Canchim x Nelore (RC), Aberdeen Angus x Nelore (TA) e Simental x Nelore (TS), infestadas naturalmente. Esses animais foram mantidos em quatro lotes de manejo, em regime de pastagens, recebendo cuidados sanitários de acordo com a

rotina na Fazenda Canchim, mas sem controle de ectoparasitas em nenhum momento durante o período do experimento. Foram contadas as teleóginas de carrapato de tamanho $\geq 4,5$ mm de diâmetro, em um lado do corpo do animal (Utech et al., 1978). Para efetuar essas avaliações, os animais foram restringidos em tronco de contenção.

Para realização das análises, primeiro procedeu-se à transformação dos dados de contagem em $\log_{10}(n + 1)$. As estimativas dos componentes de variância, para obtenção dos parâmetros genéticos, foram obtidas empregando-se o método da máxima verossimilhança restrita, livre de derivadas, utilizando-se o programa MTDFREML (Boldman et al., 1993), por meio de análise unicaráter. O modelo utilizado incluiu os efeitos fixos de grupo genético, ano-estação de contagem e estágio fisiológico (bezerra, novilha prenha, novilha vazia, vaca primípara e vaca plurípara com e sem bezerro), além dos efeitos aleatórios de animal (efeito genético aditivo direto) e de ambiente permanente do animal (efeitos não genéticos aditivos, decorrentes do próprio animal).

O mesmo conjunto de dados foi submetido à análise pelo método dos quadrados mínimos, em um modelo que incluiu os efeitos de grupo genético (GG), animal dentro de GG, ano-estação (AE) e a interação GG x AE.

2.1.2. Taxa de infestação por *Boophilus microplus* sob condições artificiais. O experimento foi realizado na Fazenda Canchim, da Embrapa Pecuária Sudeste. Foram utilizadas fêmeas NI ($n = 16$), RC ($n = 18$), TA ($n = 16$) e TS ($n = 16$), mantidas em pastagem de *Brachiaria decumbens*. As fêmeas

utilizadas neste experimento possuíam, em média, 16,5 meses de idade, e nasceram entre agosto e novembro de 2003.

Os animais foram infestados artificialmente em quatro ocasiões, em intervalos de 14 dias uma da outra. As larvas foram obtidas por meio de incubação de teleóginas em condições de demanda biológica de oxigênio (BOD) em temperatura de $27 \pm 1^\circ\text{C}$ e umidade relativa de 85% a 86%. Cada animal recebeu cerca de 20.000 larvas de carrapato com idade entre 15 e 20 dias. As infestações foram feitas colocando-se as larvas no dorso de cada animal. A primeira infestação ocorreu em 13/01/2005 e a última, em 24/02/2005. Do 19ª ao 23ª dia após cada infestação, foram realizadas cinco contagens de teleóginas semi-ingurgitadas ($\geq 4,5$ mm) do lado esquerdo de cada animal. Os animais não receberam nenhum tipo de tratamento carrapaticida durante o período de avaliação.

Os dados foram analisados em termos de percentagem de recuperação ou de retorno, ou seja, percentagem de carrapatos contados em relação ao total infestado, representada por $P_{ij} = 400.C_{ij}/20.000$, em que 400 é o fator usado para percentagem (100), razão de sexo do carrapato (1:1 de machos e fêmeas) e um lado do animal, e $C_{ij} = \text{somatório em k de } C_{jk}$, em que j é o número da infestação ($j = 1, \dots, 4$) e k é o número da contagem ($k = 1, \dots, 5$) do animal i, dentro de cada infestação. Na análise estatística dos dados, o fator P_{ij} foi transformado por raiz quarta de P_{ij} , conforme relatado por Oliveira & Alencar (1987). A análise de variância da característica transformada (raiz quarta de P_{ij}) foi feita pelo método dos quadrados mínimos, cujo modelo estatístico incluiu os efeitos de grupo genético

(GG), animal dentro de GG (erro a), infestação (I) e interação GG x I, além do resíduo (erro b). Foi feita também a análise de $Y_i =$ somatório em i de P_{ij} transformado, utilizando-se um modelo que incluiu apenas o efeito fixo de grupo genético. Os resultados foram expressos também em termos de percentagem de mortalidade de carrapatos, subtraindo-se a percentagem de recuperação de 100.

2.2. Análise do efeito de fatores genéticos e ambientais sobre as taxas de infecção por *Babesia bigemina*

2.2.1. Taxa de infecção dos bovinos por *Babesia bigemina*. Foram obtidas amostras de sangue de 15 vacas e de 15 bezerras, de cada um dos grupos genéticos estudados. Estas amostras foram utilizadas para confecção de esfregaços de sangue, para determinação do volume globular e para extração de DNA. Os esfregaços de sangue foram fixados com metanol e, posteriormente, corados com Giemsa e examinados em microscópio óptico com aumento de 1000 vezes. Todas as amostras de DNA foram submetidas à amplificação pela técnica da reação em cadeia da polimerase (PCR) e "nested" PCR (N-PCR), utilizando *primers* específicos para *B. bigemina*, designados por Figueroa et al. (1993), segundo técnica descrita por Oliveira et al. (2005). O teste exato de Fisher foi utilizado para comparar os dados de exame de esfregaços sangüíneos com os de N-PCR do sangue, empregando-se nos testes o procedimento FREQ do sistema de análises estatísticas SAS (SAS, 1996).

2.2.2. Taxa de infecção dos carrapatos por *Babesia bigemina*. De cada bovino, foram colhidas até dez fêmeas adultas (diâmetro superior a 4,5 mm) de *B. microplus*, que foram colocadas em placas escavadas de polietileno, individualmente, e incubadas em BOD em temperatura de $27 \pm 1^\circ\text{C}$ e umidade superior a 70% por 15 dias, para postura. Após esse período, as teleóginas foram examinadas, individualmente, para a pesquisa de babesias na hemolinfa. Para esse fim, amostras de hemolinfa foram obtidas por meio da secção de uma das patas; essas amostras foram recolhidas em lâminas de vidro, fixadas com metanol, coradas com Giemsa e examinadas em microscópio (aumento de 1000 vezes). Após esse processo, as teleóginas foram submetidas à extração de DNA. As reações de PCR e N-PCR da *B. bigemina* foram feitas com a mesma técnica desenvolvida para as amostras de sangue.

2.2.3. Análise de variáveis reprodutivas das teleóginas. Alíquotas com cerca de 100 ovos de cada fêmea de carrapato foram colocadas em envelopes de papel e novamente incubadas em BOD por 40 dias, para verificação da taxa de eclosão das larvas. Para leitura, os envelopes foram imersos em álcool etílico, para imobilização das larvas. A contagem de larvas e de ovos foi feita com o auxílio de lupa.

A taxa de eclosão foi obtida dividindo-se o número de larvas contadas pelo número de ovos íntegros mais o número de larvas, multiplicando-se o resultado por 100.

2.3. Análise de marcadores moleculares

Amostras de DNA dos bovinos avaliados para contagem de carrapato e de todos os pais disponíveis por ocasião do experimento foram extraídas de sangue ou de sêmen, utilizando os procedimentos descritos em Regitano (2001).

Oito marcadores foram selecionados com base na sua posição, próximos aos genes IFNG, TNF α , IgG, interleucina 2 e interleucina 4, conforme apresentado na Tabela 1.

Os *primers* diretos de cada loco foram marcados com fluorocromo, de forma a permitir a visualização dos produtos de amplificação no seqüenciador ABI Prism 3100 Avant (Applied Biosystems). Os padrões de amplificação foram analisados pelos *softwares* Genescan® e Genotyper® (Applied Biosystems), definindo-se o padrão de migração de cada alelo. As frequências alélicas foram estimadas por contagem direta.

Para as análises de associação entre marcadores e de resistência ao carrapato, as médias de valores de contagem de carrapatos de cada animal em condições de infestação natural, transformadas por $\log(x + 1)$ e ajustadas para os efeitos fixos de estado fisiológico e ano-estação da contagem, foram utilizadas em análises de variância pelo método dos quadrados mínimos, em modelo que considerou os efeitos fixos de touro, o número de contagens e o genótipo marcador. Estas análises foram realizadas para cada marcador e para cada grupo genético separadamente, uma vez que as frequências alélicas dos marcadores variaram entre grupos genéticos e que, em cada grupo genético, diferentes genótipos precisaram ser excluídos da análise em virtude de sua baixa frequência (<4 animais).

Apenas médias de sete ou mais contagens ao longo do tempo no mesmo animal foram consideradas. Os genótipos dos oito marcadores moleculares foram utilizados para confirmar as informações de paternidade dos animais gerados por inseminação artificial ou para determinar a paternidade, no caso de cobertura natural (NI e RC). Somente animais com paternidade conhecida foram incluídos nesta análise.

Análise semelhante foi realizada utilizando como variável de resposta o valor genético estimado para contagem de carrapato, descrito no item 2.1.1, considerando no modelo os efeitos de pai e de genótipo marcador.

Tabela 1. Descrição dos marcadores analisados, indicando o cromossomo a que pertence (BTA), gene candidato a que está ligado, posição relativa no cromossomo em centimorgans (cM) do gene candidato e do marcador, sequência dos iniciadores utilizados na PCR e marcação fluorescente.

BTA	Gene candidato	Posição (cM)	Marcador – posição (cM)	Sequência dos iniciadores (5'-3')	Marcação
BTA5	Interferon gama (IFNG)	51,20	BL4 - 52,40	F- AAATTTTTCATCCTCTTTCTGAC	Hex
				R- TCACCTGACTGTGAATGC	
BTA7	Interleucina 4 (IL4)	32,04	BOBT4 - 32,04	F- GCCTGCATGTCTGTGG	Ned
				R- TCTGTGTGGAAATACCTCC	
BTA17	Interleucina 4 (IL4)	32,04	IL4- 32,04	F- GAGCAAGGGAATTCAGTGGAGC	Hex
				R- TGTATTTTACATTCAGGTCGTGATCC	
BTA21	Immunoglobulinas A e G	> 70	ILSTS054 - 65,8	F- GTGCTGGACATCTGCAAGTG	Hex
				R- ACATTCAGGTCGTGTGATCCATG	
BTA21	Immunoglobulinas A e G	> 70	BMS670 - 81,5	F- GAGGATCTTGAATTTTGATGTCC	Ned
				R- AGGGCCACTATGGTACTTCC	
BTA17	Interleucina 2 (IL2)	43	BMS941 - 57,01	F- ACTGCCATTCTGGTTTCTGC	Fam
				R- TGAGCAACTAAACACGACAGC	
BTA23	TNF BOLA MHC class I	36,5 36,7	CYP21 - 36	F- GAGGCTTCCAGACATTAGG	Hex
				R- TGCTTCACTTTTGATCC	
BTA23	TNF BOLA MHC class I	36,5 36,7	CYP21 - 36	F- GGAGGTTACAGTCCATGAGTTTG	Hex
				R- TCGGATCCCACTCCTCCTGAAG	

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Infestações artificiais

A análise de variância da taxa de recuperação transformada (raiz quarta de P_{ij}) mostrou efeitos significativos ($P < 0,01$) de todas as fontes de variação incluídas no modelo, ou seja, do grupo genético (GG), da infestação (I) e da interação GG x I. O modelo estatístico explicou 86,8% da variação na característica. Na Figura 1, são apresentadas as médias da característica para cada grupo genético e para cada infestação. Observa-se que os animais TA e TS apresentaram maior taxa de recuperação em todas as quatro infestações. Nos animais NI e RC, taxas de retorno semelhantes foram observadas nas duas primeiras infestações, mas os animais NI tiveram menor taxa de recuperação nas duas últimas infestações. As médias e os erros-padrão de cada grupo genético foram de $0,40 \pm 0,02\%$, $0,65 \pm 0,02\%$, $1,06 \pm 0,02\%$ e $1,01 \pm 0,02\%$, em NI, RC, TA e TS, respectivamente. Quanto à infestação, as médias estimadas foram de 0,83%, 0,96%, 0,55% e 0,77% nas infestações 1, 2, 3 e 4, respectivamente, observando-se queda acentuada na taxa de recuperação na terceira infestação, o que também ocorreu com os grupos genéticos individualmente. Como os animais permaneceram todo o período experimental em pasto de *B. decumbens*, é possível que infestações naturais tenham ocorrido, causando confundimento entre infestações. Quando a análise foi feita com a característica Y_i , o efeito de grupo genético foi significativo ($P < 0,01$) e as médias estimadas e o respectivo erro-padrão foram de $1,60 \pm 0,28\%$ (NI), $2,59 \pm 0,27\%$ (RC), $4,22 \pm 0,28\%$ (TA) e $4,05 \pm 0,28\%$

(TS), o que mostra que os animais TA e TS foram menos resistentes à infestação, os animais NI foram mais resistentes à infestação e os animais RC apresentaram resistência intermediária.

Outros autores também verificaram diferenças entre grupos genéticos quanto à taxa de recuperação em infestações artificiais. Teodoro et al. (1984), estudando a resistência de touros mestiços de leite, observaram diferenças entre os três "graus de sangue" considerados. Oliveira & Alencar (1987) verificaram maior taxa de recuperação em animais da raça Canchim, em comparação a animais da raça Nelore. Em infestações naturais, outros autores (Lemos et al., 1985; Oliveira et al., 1989) também observaram variação nos graus de infestação em diferentes grupos genéticos.

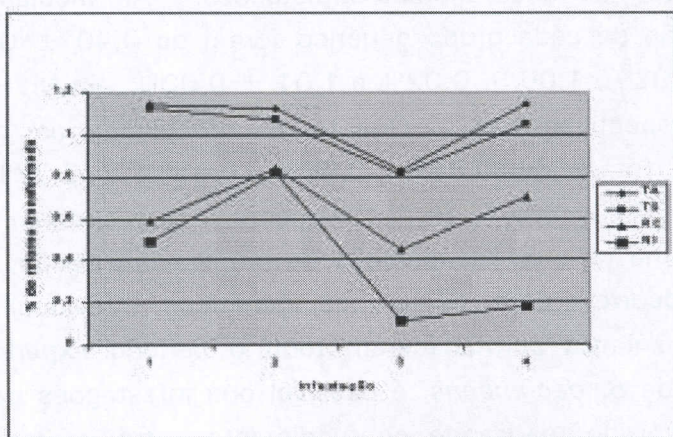


Figura 1. Percentagem de recuperação transformada por raiz quarta, de acordo com o grupo genético (Aberdeen Angus X Nelore – TA, Simental X Nelore – TS, Canchim X Nelore – RC e Nelore – NI) e a infestação.

Quando se considerou a média das taxas de retorno das quatro infestações, observaram-se as taxas de mortalidade apresentadas na Tabela 2. Verifica-se que em 100% dos animais NI ocorreu mortalidade de carrapatos acima de 99%, enquanto em 66,67% dos animais RC, em 31,25% dos animais TA e em 43,75% dos animais TS houve mortalidade de carrapatos nesta faixa. Cerca de 17% dos animais RC, 37,50% dos animais TA e 18,75% dos animais TS foram incluídos na faixa de 98,1% a 99,0% de mortalidade. Ao se considerar, conforme Utech et al. (1978), citados por Oliveira & Alencar (1987), as classes >98,0%, de 95,1% a 98,0%, de 90,0% a 95,0% e <90,0% como alta, moderada, baixa e muito baixa resistência, respectivamente, observa-se que 100,00%, 83,33%, 68,75% e 62,50% dos animais NI, RC, TA e TS, respectivamente, seriam considerados de alta resistência e o restante, de moderada resistência. A maior percentagem de animais RC na classe de alta resistência, em comparação aos TA e aos TS, era esperada, pois eles possuem, em média, maior percentagem de zebu.

3.2. Infestações naturais

De uma a dez contagens do número de fêmeas de carrapato (*B. microplus*) foram feitas no lado esquerdo do corpo de fêmeas bovinas dos grupos genéticos NI, RC, TA e TS, de julho de 2003 a dezembro de 2004, totalizando 5.816 observações em 708 bovinos de seis estádios fisiológicos.

As estimativas dos componentes de variância, de herdabilidade e de repetibilidade, obtidas pela análise unicaráter, são apresentadas na Tabela 3.

Tabela 2. Número e percentagem de bovinos, de acordo com a classe de mortalidade de carrapatos e o grupo genético.

Grupo genético ²	Classe de mortalidade ¹									
	> 99,0%		98,1%		99,0%		97,1%		98,0%	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
NI	16	100,00	-	-	-	-	-	-	-	-
RC	12	66,67	3	16,67	1	5,55	2	11,11	-	-
TA	5	31,25	6	37,50	1	6,25	2	12,50	2	12,50
TS	7	43,75	3	18,75	4	25,00	1	6,25	1	6,25

¹ Mortalidade obtida por subtração da média da taxa de recuperação das quatro infestações de 100.

² NI, RC, TA e TS = Nelore, Canchim x Nelore, Aberdeen Angus x Nelore e Simental x Nelore, respectivamente.

Tabela 3. Componentes de variância, herdabilidade e repetibilidade do número de carrapatos, obtidos pela análise unicaráter.

Característica	σ_a^2	σ_e^2	σ_p^2	σ_t^2	h^2	c^2	e	R
CART	0,137	0,000	0,775	0,912	0,15	0,001	0,85	0,15

$\sigma_a^2, \sigma_e^2, \sigma_p^2, \sigma_t^2$ = componentes de variância genéticos aditivos diretos, residual de ambiente permanente (aditivo, decorrente do animal) e fenotípico total.

h^2 = herdabilidade.

c^2 = relação entre os componentes de ambiente permanente e fenotípico total.

R = repetibilidade.

CART = número de carrapatos.

A estimativa de herdabilidade do número de carrapatos (0,15), apesar de baixa, indica que essa característica apresenta alguma variação genética, o que sugere a possibilidade de progresso genético pela seleção. O valor de herdabilidade obtido neste trabalho é inferior aos valores de 0,35 e 0,37, estimados por Mackinnon et al. (1991), com animais cruzados *Bos indicus* x *Bos taurus* na Austrália; aos valores de 0,28 e 0,38 obtidos por Conceição Jr. (1996), com animais cruzados de Brahman, Hereford e Shorthorn e puros Brahman na Austrália; ao valor de 0,47 estimado por Cardoso et al. (1999), em animais cruzados Nelore x Angus, no Brasil; e de 0,22, obtido por Fraga et al. (2003), na raça Caracu, no Brasil. Entretanto, a estimativa deste trabalho concorda com o valor de 0,16 relatado por Conceição Jr. (1996), de animais Hereford x Shorthorn, na Austrália. A estimativa de repetibilidade (0,15) do número de carrapatos é menor do que 0,29, valor observado por Fraga et al. (2003), o que indica a necessidade de se fazer mais de uma contagem por animal para se obter melhor avaliação do fenótipo.

Nas análises em que se utilizou o método dos quadrados mínimos, todas as fontes de variação incluídas no modelo (grupo genético – GG, animal dentro de GG, ano–estação – AE e interação GG x AE) influenciaram ($P > 0,01$) a característica estudada.

As médias não transformadas de cada grupo genético por ano–estação de contagem são apresentadas na Figura 2. As diferenças entre grupos genéticos foram dependentes de ano–estação de contagem. Durante os períodos de grande infestação, as diferenças entre grupos genéticos se tornaram

mais proeminentes, e animais com maior proporção de *Bos indicus* (NI e RC) foram menos infestados do que os com maior proporção de *Bos taurus* (TA e TS).

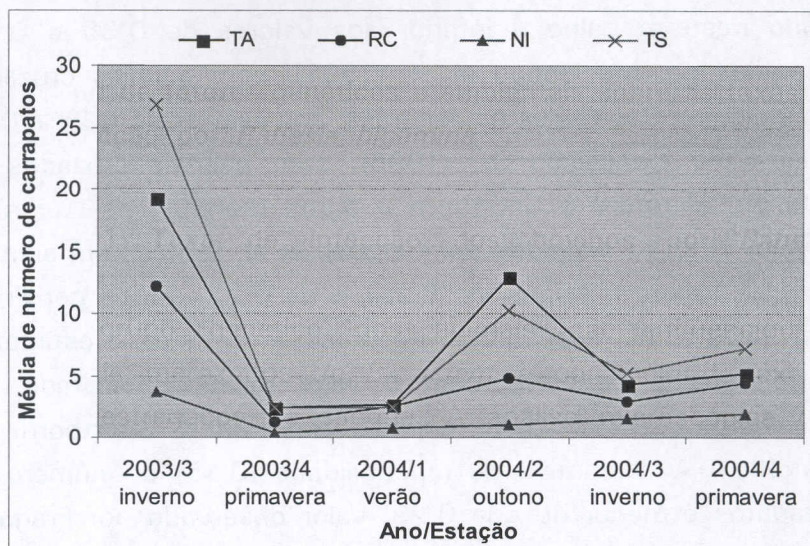


Figura 2. Médias dos grupos genéticos (Nelore – NI, Canchim x Nelore – RC, Aberdeen Angus x Nelore – TA e Simental x Nelore – TS) x ano–estação de contagem de carrapato (*Boophilus microplus*).

3.3. Efeito de fatores genéticos e ambientais sobre as taxas de infecção por *Babesia bigemina*

3.3.1 Taxa de infecção dos bovinos por *Babesia bigemina*

O grupo genético dos animais não influenciou a detecção de merozoítos de *B. bigemina* por meio do exame direto de esfregaços de sangue. A análise microscópica dos

esfregações de sangue periférico dos bovinos permitiu a detecção de babésias somente em esfregaços de bezerras (quatro animais da raça Nelore e dois cruzados Aberdeen Angus x Nelore), enquanto nenhuma vaca foi detectada como positiva. Essa diferença entre bezerras e vacas foi estatisticamente significativa ($P < 0,01$). Todas as bezerras apresentaram parasitemia menor do que 0,1%. A região de São Carlos, foi anteriormente caracterizada como de estabilidade endêmica para as babesioses (Oliveira et al., 2005; Oliveira-Sequeira, 2005). De acordo com Mahoney & Ross (1972), em regiões em que a babesiose é endêmica, a incidência de parasitemia varia de zero ao nascimento dos animais e chega ao máximo entre seis meses e dois anos, quando declina fortemente. As bezerras analisadas neste experimento apresentavam cerca de 12 meses de idade e, em decorrência da infecção a que foram constantemente submetidas desde o nascimento, já apresentavam forte resistência. Mesmo os animais com parasitemia patente, não mostraram sinais clínicos de babesioses ou de alterações graves do hematócrito. Além disso, deve-se considerar que, em todas as bezerras foi detectada parasitemia muito baixa e apenas *B. bigemina*, o protozoário que causa anemia hemolítica menos grave (Mahoney & Ross, 1972; Kakoma & Melhorn, 1994), estava presente nos exames diretos.

A PCR foi capaz de detectar 51 bezerras infectadas por *B. bigemina*, enquanto entre as vacas apenas nove foram positivas a essa primeira reação. A amplificação do DNA do parasita pela sequência de PCR e N-PCR revelou que 100% dos animais (bezerras e vacas) eram positivos para *B. bigemina* em

todos os grupos genéticos estudados. Dados similares foram encontrados em estudo de epidemiologia molecular com animais mestiços leiteiros, em que foi verificado que tanto vacas como bezerras apresentaram alta taxa de infecção por babésias (Oliveira et al., 2005). Estes achados mostram que a maior resistência dos zebuínos às babesioses não deve ser interpretada como capacidade de se manterem livres ou com baixo nível de infecção. Desse modo, os prejuízos advindos do estado de portador parecem afetar todas as raças estudadas. Novamente, o fator que mais influenciou a presença de babésias no sangue dos animais foi a idade. Nas bezerras, foi possível detectar parasitemias por meio da reação de PCR (primeira reação) em todos os grupos genéticos estudados, fato que mostra que essa categoria apresenta maior disponibilidade de DNA do parasita, quando comparada aos adultos. Este fato confirma em parte a observação feita por meio dos exames diretos, em que somente nas bezerras foi detectada parasitemia patente.

As médias dos valores de hematócrito não diferiram entre os grupos genéticos e foram de 38,6%, 39,6%, 39,9% e 40,2% nos animais Aberdeen Angus x Nelore, Simental x Nelore, Nelore e Canchim x Nelore, respectivamente. Não foram observadas associações entre a presença de hemoparasitas nos exames diretos e os valores de hematócrito. A maior parasitemia dos bovinos positivos detectada por meio da PCR influenciou os níveis de hematócrito desses animais; esses níveis foram significativamente inferiores àqueles dos animais positivos somente na N-PCR. A forte relação entre idade e parasitemia por babésias foi verificada em animais mestiços leiteiros criados

na mesma região de São Carlos (Oliveira-Sequeira et al., 2005). A ocorrência de babesioses clínicas em bezerras tem sido freqüentemente descrita em diversas regiões do Brasil (Kessler et al., 1983; Madruga et al., 1986; Faria, 1995). Neste experimento, as bezerras foram mantidas em pastos infestados desde o nascimento, o que propiciou o desenvolvimento de sólida imunidade. Esses animais sofreram infecções primárias por babésias e desenvolveram parasitemia, até se estabelecerem como portadores (Callow et al., 1986). Desse modo, durante os primeiros meses de vida esses animais sofreram queda acentuada no volume globular, que, porém, ainda não havia se restabelecido completamente. Apesar de os níveis de hematócrito dos animais positivos na reação de PCR serem inferiores aos dos demais, estavam ainda dentro dos limites considerados normais (Jain, 1993).

3.3.2. Taxa de infecção dos carrapatos por *Babesia bigemina*

Esporocinetos de *Babesia* spp. foram encontrados apenas em fêmeas de carrapatos que se alimentaram em bezerras (nove dentre 549), sendo quatro em Nelore, um em Canchim x Nelore, um em Aberdeen Angus x Nelore e três em Simental x Nelore. A média do número de esporocinetos por campo microscópico foi de 1,7 (variando entre 3,3 e 0,13).

Por meio de N-PCR, foi possível detectar número significativamente ($P < 0,01$) maior de carrapatos infectados por *B. bigemina*, tanto em vacas como em bezerras, de todos os grupos genéticos. Porém, novamente foi verificada a forte associação entre idade e taxa de infecção dos carrapatos. Do

total de 549 amostras de DNA de fêmeas adultas de carrapato que se alimentaram em bezerras e foram analisadas por meio da N-PCR para *B. bigemina*, 24,4% (134) foram positivas. Dentre as fêmeas de carrapato que se alimentaram em vacas, apenas 9,4% (52) foram positivas ao exame de N-PCR. As análises estatísticas mostraram associação significativa entre a taxa de infecção e a idade, por grupo genético do hospedeiro. Quando se desdobrou a análise, verificou-se que as diferenças observadas entre a taxa de infecção por *B. bigemina* em teleóginas que se alimentaram em vacas e em bezerras foram significativas ($P < 0,01$). A ocorrência de parasitemia patente no hospedeiro vertebrado é um fator preponderante para a ocorrência de infecção nas teleóginas (Mahoney & Ross, 1972; Forero et al., 1986; Guglielmone et al., 1996; Melendez & Forlano, 1996) e está ligada a maior disponibilidade de protozoários no sangue de animais jovens nos sistemas em que a doença é endêmica. A associação entre a parasitemia do hospedeiro e a infecção dos carrapatos não se restringe às espécies de babésias parasitas de bovinos, já que Yeruham et al. (2001) encontraram esta mesma associação entre taxa de infecção de teleóginas por *Rhipicephalus bursa* e parasitemia por *Babesia ovis*.

As análises não mostraram diferenças entre os grupos genéticos.

3.3.3. Análise da taxa de eclosão das larvas de *Boophilus microplus*

A análise referente à taxa de eclosão das larvas dos carrapatos foi feita com os dados transformados em arco-seno de $x + 0,05$. O modelo incluiu raça, idade, interação raça x idade, infecção por carrapato, interação raça x infecção por

carrapato e interação idade x infecção por carrapato. As taxas de eclosão das larvas de *B. microplus* originárias de carrapatos colhidos em vacas, foram de 46,7% nos carrapatos positivos e 64,8%, nas amostras de carrapatos negativos para *B. bigemina*. Essa diferença foi significativa ($P < 0,01$). Com ovos dos carrapatos colhidos em bezerras, as taxas de eclosão foram de 60,1% e de 66,9% nos positivos e nos negativos para *B. bigemina*, respectivamente, valores que não diferiram entre si ($P > 0,05$). De acordo com Hodgson (1992), os efeitos da infecção por babesias nos bovinos vão desde ligeira queda na produção de ovos até a morte da teleógina antes do término da postura. Esses efeitos dependem, ainda, do grau de parasitemia do bovino e da suscetibilidade da cepa de carrapato e da cepa de babesia. Oliveira et al. (2005) encontraram efeito significativo da infecção por babesias no hospedeiro vertebrado, sobre a taxa de eclosão de larvas de carrapatos colhidos em bezerras mestiças leiteiras, em estudo desenvolvido na mesma região deste experimento. A chamada tolerância adaptativa dos carrapatos a infecções naturais por babesias foi descrita por vários autores (Gaido & Guglielmone, 1995; Guglielmone et al., 1996; Cen-Aguilar et al., 1998), que postularam que em condições naturais os carrapatos não são afetados de forma significativa pela infecção pelos protozoários.

As médias das taxas de eclosão de larvas de *B. microplus*, de acordo com o grupo genético e o resultado da N-PCR para *B. bigemina* da fêmea adulta de carrapatos, são mostradas na Tabela 4. As médias das taxas de eclosão das larvas não diferiram entre as raças de bovinos e foram de 59%

nos animais Aberdeen Angus x Nelore, de 62% nos Canchim x Nelore, de 58% nos Simental x Nelore e de 67% nos animais puros Nelore.

Tabela 4. Médias das taxas de eclosão de larvas de *Boophilus microplus* de acordo com o grupo genético e o resultado da N-PCR para *B. bigemina* da fêmea de carrapato adulta.

	Angus x Nelore	Canchim x Nelore	Simental x Nelore	Nelore	Total
Positivos	67,08 ^{a AB}	65,66 ^{a A}	72,86 ^{a B}	57,93 ^{a AB}	65,88
Negativos	52,88 ^{a A}	40,02 ^{b AB}	61,70 ^{a A}	59,54 ^{a B}	53,51
Total	59,99	52,79	67,28	58,73	

Letras minúsculas iguais na mesma coluna e letras maiúsculas iguais na mesma linha indicam diferenças não significativas ($p < 0,05$).

3.4. Análise de marcadores moleculares

3.4.1. Distribuição de freqüências. Todos os marcadores analisados apresentaram polimorfismo e o número de alelos por loco variou de 3 (BMS670) a 19 (CYP21). As freqüências dos alelos dos oito marcadores analisados são apresentadas na Tabela 5.

3.4.2. Associação entre genótipos marcadores e características de resistência. Os genótipos dos marcadores IL4 e BOBT24 influenciaram significativamente ($P < 0,05$) as médias dos valores transformados da contagem de carrapatos de cada animal em condições de infestação natural, ajustados para os fatores não genéticos, nos grupos genéticos NI, RC e TA

(Tabela 6). Já nas análises em que o valor genético da contagem de carrapato foi a variável de resposta, os marcadores IL4 e BOBT24 influenciaram significativamente ($P < 0,05$) os valores transformados apenas no grupo genético NI. Nessa análise, o efeito de genótipo do marcador BMS941 também foi significativo ($P > 0,05$) nos grupos genéticos NI e TS.

Os marcadores BOBT24 e o microssatélite IL4 encontram-se no cromossomo 7 dos bovinos (BTA7), em sintonia absoluta com o gene da interleucina 4 (IL4), importante modulador da resposta imunológica. A interleucina 4 é uma citocina secretada por linfócitos T CD4⁺ específicos de resposta do tipo Th2, envolvidos na proliferação e na diferenciação de células B. A expressão dessas citocinas polariza a resposta imunológica para o tipo humoral, o tipo de resposta predominante em situações de estresse por patógenos extracelulares (Constant & Bottomly, 1997). A hipótese da presença de um gene importante para a variação da contagem de carrapatos nessa região do genoma dos bovinos é reforçada por resultados obtidos em trabalho realizado por Gasparin et al. (2006a), em que um loco de caráter quantitativo (QTL) altamente significativo ($P < 0,01$) foi mapeado por análises de varredura do BTA7, em uma população F₂ produzida pelo cruzamento de gado gir e holandês.

A associação entre o marcador BMS941 e a resistência dos animais aos carrapatos indica implicação da interleucina 2 (IL2) na variação fenotípica. A região do genoma de bovinos na qual se encontra o gene da IL2 foi selecionada para o presente estudo pelo papel que a citocina codificada por esse gene parece exercer na resposta de hospedeiros aos parasitas, já que em diversos modelos de relação carrapato-hospedeiro observa-

se a inibição da ação dessa citocina, tanto no nível de expressão gênica quanto no nível protéico. Estudos recentes de expressão gênica em animais Nelore (Nakata et al., 2006) demonstraram a depressão nos níveis de RNAm de IL2 em animais expostos ao *B. microplus*. Desta forma, é possível que variações nesse gene confirmem mecanismos de escape aos processos desenvolvidos pelo parasita para bloquear a resposta do hospedeiro.

Tabela 5. Frequências alélicas e respectivos erros-padrão dos oito microssatélites analisados nos grupos genéticos Aberdeen Angus x Nelore (TA), Simental x Nelore (TS), Canchim x Nelore (RC) e Nelore (NI).

	Alelo (pb)	TA (143)		TS (142)		RC (200)		NI (213)	
		Frequência	EP	Frequência	EP	Frequência	EP	Frequência	EP
IL4	81	-	-	-	-	0,010	0,005	-	-
	83	-	-	0,021	0,009	-	-	-	-
	85	0,087	0,017	0,155	0,021	0,060	0,012	-	-
	87	-	-	0,004	0,004	-	-	0,002	0,002
	89	0,133	0,020	0,183	0,023	0,253	0,022	0,307	0,022
	91	0,063	0,014	0,028	0,010	0,128	0,017	0,123	0,016
	93	0,545	0,029	0,317	0,028	0,283	0,023	0,205	0,020
	95	0,004	0,003	0,004	0,004	0,003	0,002	-	-
	97	0,056	0,014	0,211	0,024	0,058	0,012	-	-
	99	0,004	0,003	0,011	0,006	0,003	0,002	0,014	0,006
	101	-	-	0,039	0,011	0,028	0,008	0,002	0,002
	103	-	-	-	-	-	-	0,005	0,003
	105	0,108	0,018	0,028	0,010	0,178	0,019	0,342	0,023
BOBT24	133	-	-	-	-	0,010	0,005	-	-
	135	-	-	0,021	0,009	-	-	-	-
	137	0,087	0,017	0,155	0,021	0,060	0,012	0,002	0,002
	139	-	-	0,004	0,004	-	-	-	-
	141	0,133	0,020	0,183	0,023	0,256	0,022	0,308	0,022
	143	0,063	0,014	0,032	0,010	0,121	0,016	0,122	0,016
	147	0,004	0,003	0,004	0,004	0,003	0,003	-	-
	148	0,545	0,029	0,310	0,027	0,294	0,023	0,204	0,020
	149	0,056	0,014	0,215	0,024	0,028	0,008	-	-
	151	0,004	0,003	0,004	0,004	0,023	0,007	0,014	0,006
	153	-	-	0,046	0,012	0,028	0,008	0,002	0,002

Continua ...

Tabela 5. Frequências alélicas e respectivos erros-padrão dos oito microssatélites analisados nos grupos genéticos TA, TS, RC e NI (*continuação ...*)

BMS1617	157	-	-	-	-	-	-	0,005	0,003
	159	0,108	0,018	0,028	0,010	0,178	0,019	0,343	0,023
	147	-	-	-	-	-	-	0,005	0,003
	149	0,297	0,027	0,110	0,019	0,084	0,014	0,014	0,006
	153	-	-	0,007	0,005	0,005	0,004	-	-
	157	-	-	-	-	-	-	0,002	0,002
	159	0,416	0,029	0,294	0,027	0,350	0,024	0,453	0,024
	161	0,108	0,018	0,145	0,021	0,131	0,017	0,408	0,024
	163	0,073	0,015	0,340	0,028	0,337	0,024	0,064	0,012
	165	0,035	0,011	0,021	0,009	0,037	0,009	0,017	0,006
BL4	167	0,004	0,003	0,011	0,006	-	-	-	-
	169	0,045	0,012	0,039	0,011	0,017	0,007	0,024	0,007
	171	0,021	0,008	0,032	0,010	0,039	0,010	0,014	0,006
	133	-	-	-	-	0,010	0,005	-	-
	143	0,101	0,018	0,127	0,020	0,146	0,018	0,228	0,020
	147	0,063	0,014	0,102	0,018	0,043	0,010	0,007	0,004
	150	0,385	0,029	0,377	0,029	0,503	0,025	0,751	0,021
	153	0,004	0,003	0,014	0,007	0,033	0,009	0,002	0,002
	155	0,434	0,029	0,335	0,028	0,209	0,020	0,009	0,005
	159	0,007	0,005	0,046	0,012	0,043	0,010	-	-
ILSTS054	161	0,007	0,005	-	-	0,015	0,006	0,002	0,002
	126	0,049	0,013	0,042	0,012	0,079	0,013	0,065	0,012
	130	0,269	0,026	0,248	0,026	0,163	0,018	-	-
	134	0,063	0,014	0,196	0,024	0,167	0,019	0,140	0,017
	136	0,311	0,027	0,150	0,021	0,266	0,022	0,273	0,022
	138	0,252	0,026	0,266	0,026	0,254	0,022	0,444	0,024
	140	-	-	0,004	0,004	0,030	0,008	-	-
	142	0,049	0,013	0,091	0,017	0,042	0,010	0,075	0,013
	144	0,007	0,005	0,004	0,004	-	-	0,002	0,002
	119	0,004	0,003	0,021	0,009	0,409	0,025	0,826	0,018
BMS670	121	0,997	0,003	0,979	0,009	0,584	0,025	0,174	0,018
	123	-	-	-	-	0,007	0,004	-	-
	72	0,007	0,005	0,004	0,004	0,002	0,002	0,002	0,002
BMS941	74	0,127	0,020	0,140	0,021	0,187	0,019	0,255	0,021
	76	0,022	0,009	0,028	0,010	0,047	0,011	0,056	0,011
	78	0,014	0,007	0,045	0,012	0,042	0,010	0,098	0,014
	80	-	-	0,014	0,007	0,027	0,008	-	-
	82	0,228	0,025	0,122	0,019	0,249	0,022	0,308	0,022
	84	0,004	0,004	0,010	0,006	0,002	0,002	-	-
	86	0,069	0,015	0,063	0,014	0,065	0,012	0,107	0,015
	88	0,065	0,015	0,017	0,008	0,032	0,009	0,028	0,008
	90	0,018	0,008	0,007	0,005	0,030	0,009	0,005	0,003
	92	0,007	0,005	-	-	-	-	0,002	0,002
	94	0,040	0,012	0,035	0,011	0,020	0,007	0,009	0,005
	96	0,101	0,018	0,098	0,018	0,092	0,014	0,114	0,015
	98	0,004	0,004	0,007	0,005	0,027	0,008	-	-
	100	0,004	0,004	0,150	0,021	0,117	0,016	0,005	0,003
	102	0,268	0,026	0,049	0,013	0,037	0,009	0,005	0,003
	104	0,007	0,005	0,094	0,017	0,010	0,005	-	-
	106	0,014	0,007	0,115	0,019	0,012	0,006	0,005	0,003

Tabela 5. Frequências alélicas e respectivos erros-padrão dos oito microssatélites analisados nos grupos genéticos TA, TS, RC e NI (*continuação ...*)

	Alelo (pb)	TA (143)		TS (142)		RC (200)		NI (213)	
		Frequência	EP	Frequência	EP	Frequência	EP	Frequência	EP
CYP21	182	-	-	0,004	0,004	0,005	0,004	-	-
	184	0,010	0,006	-	-	-	-	-	-
	186	0,049	0,013	0,215	0,024	0,153	0,018	0,083	0,013
	188	0,147	0,021	0,187	0,023	0,123	0,016	0,132	0,016
	190	0,028	0,010	0,092	0,017	0,063	0,012	0,097	0,014
	192	0,150	0,021	0,067	0,015	0,068	0,013	0,092	0,014
	194	0,038	0,011	0,007	0,005	0,015	0,006	0,042	0,010
	196	0,010	0,006	0,042	0,012	0,030	0,009	0,005	0,003
	198	0,178	0,023	0,088	0,017	0,118	0,016	0,101	0,015
	200	0,101	0,018	0,018	0,008	0,030	0,009	0,019	0,007
	202	0,035	0,011	0,018	0,008	0,060	0,012	0,019	0,007
	204	0,059	0,014	0,032	0,010	0,075	0,013	0,075	0,013
	206	0,017	0,008	0,137	0,020	0,155	0,018	0,040	0,010
	208	0,056	0,014	0,007	0,005	0,015	0,006	0,106	0,015
	210	-	-	0,004	0,004	-	-	0,002	0,002
	212	0,007	0,005	0,004	0,004	0,033	0,009	0,012	0,005
	214	0,028	0,010	0,042	0,012	0,045	0,010	0,151	0,017
	216	0,014	0,007	0,007	0,005	0,003	0,002	0,017	0,006
	218	0,070	0,015	0,032	0,010	0,013	0,006	0,007	0,004

Tabela 6. Médias e erros-padrão de contagem de carrapato, ajustadas de acordo com o genótipo dos marcadores IL4 e BOBT24, nos grupos genéticos Nelore (NI), Canchim x Nelore (RC) e Aberdeen Angus x Nelore (TA).

Genótipo	NI		RC		TA	
	Média	EP	Média	EP	Média	EP
8189	-	-	0,502	0,254	-	-
8593	-	-	1,203	0,131	-	-
8989	0,679	0,090	1,103	0,193	-	-
8991	0,257	0,157	1,211	0,173	-	-
8993	0,499	0,103	1,185	0,111	1,397	0,086
89105	0,431	0,071	0,568	0,176	-	-
91091	0,460	0,144	-	-	-	-
91093	0,334	0,164	0,633	0,203	1,826	0,137
91097	-	-	1,002	0,399	-	-
91101	-	-	1,515	0,283	-	-
91105	0,657	0,083	-	-	-	-
9393	0,353	0,111	-	-	1,671	0,097
9397	-	-	0,919	0,400	-	-
93105	0,509	0,079	1,256	0,144	1,556	0,092
105105	0,443	0,085	1,945	0,347	-	-
BOBT24	133141	-	0,4900	0,2668	-	-
	137145	-	1,1847	0,1430	-	-
	141141	0,6993	0,1038	1,0954	0,2129	-
	141143	0,2665	0,1602	1,2342	0,1811	-
	141145	0,4781	0,1122	1,1625	0,1206	1,3435
	141159	0,4123	0,0900	0,5268	0,1899	-
	143143	0,4722	0,1555	1,3644	0,3356	-
	143145	0,3829	0,1724	0,6651	0,2418	1,7717
	143153	-	-	1,5043	0,2965	-
	143159	0,6852	0,0946	-	-	-
	145145	0,4141	0,1164	-	-	1,6210
	145149	-	-	1,3638	0,4267	-
	145159	0,5130	0,1008	1,2552	0,1630	1,4997
	159159	0,4220	0,1005	1,8449	0,3714	-

O fato de o marcador BMS941 ter se mostrado significativamente associado apenas ao valor genético para contagem de carrapatos pode ser atribuído à diferença de tamanho amostral, uma vez que nas análises de associação com a média de contagem apenas animais com sete ou mais contagens foram incluídos. Além disso, o número de animais considerados para esse marcador foi ainda mais reduzido, por causa da exclusão de genótipos raros e de animais com paternidade indeterminada, restando apenas aproximadamente 60 por grupo genético após essas na análise final.

De acordo com o delineamento experimental utilizado no presente trabalho, as variações são observadas dentro de famílias de meios-irmãos, de tal forma que a segregação que pode ser medida é a de touros.

A limitação do tamanho amostral, principalmente por se tratar de cruzamentos entre duas raças, em que se espera encontrar redução da variância fenotípica, pode ter sido o fator mais importante nas diferenças entre os resultados observados nos quatro grupos genéticos. Essa limitação de tamanho amostral e de variância fenotípica pode ter sido a razão pela qual nenhuma associação foi encontrada entre o marcador do gene IFNG e as características de resistência ao carrapato, apesar de haver evidências da presença de um QTL altamente significativo na região desse gene em famílias F_2 de gado holandês x gir (Gasparin et al., 2006b). Entretanto, se forem levados em consideração os valores estimados de herdabilidade e o tamanho amostral, o fato de haver sido encontrada associação entre duas regiões do genoma e características de resistência ao carrapato sugere que esses marcadores tenham grande efeito sobre a característica ou que estejam muito proximamente ligados ao gene responsável pela variação.

Nenhuma análise de associação entre genótipo marcador e taxa de infecção por *B. bigemina* pôde ser conduzida, uma vez que não houve variação na taxa de infecção.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Quando se consideraram as quatro infestações artificiais em conjunto, observou-se que os bovinos dos grupos genéticos TA e TS apresentaram maior percentagem de recuperação, em comparação aos NI, enquanto os animais RC apresentaram taxa de recuperação intermediária, o que sugere maior resistência ao carrapato dos animais NI, resistência intermediária dos animais RC e menor resistência dos bovinos dos grupos TA e TS.

As taxas de infecção por *B. bigemina* nos quatro grupos genéticos estudados não diferiram, o que mostra que a maior resistência às babesias atribuída aos animais zebuínos não é convertida em menor nível de parasitas que cada animal portador alberga. O principal fator que afetou a taxa de eclosão das larvas colhidas nos animais dos quatro grupos genéticos foi a infecção por babesias.

As análises de marcadores, utilizando a estratégia de posições candidatas, permitiu indicar os genes da interleucina 4 e da interleucina 2 como potenciais candidatos a influenciar as variações fenotípicas da resistência ao carrapato nos grupos genéticos estudados.

5. Trabalhos publicados

Trabalhos completos apresentados em anais de eventos

SILVA, A. M. da; ALENCAR, M. M. de.; REGITANO, L. C. A.; OLIVEIRA, M. C. S. Estimativas de herdabilidade e repetibilidade do grau de infestação por ectoparasitos em fêmeas de quatro grupos genéticos de bovinos de corte. In.: REUNIAO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 43., João Pessoa, 2006. **Anais...** João Pessoa: SBZ, 2006. 1 CD-ROM.

REGITANO, L. C. A.; MARTINEZ, M. L.; MACHADO, M. A. Molecular aspects of bovine tropical adaptation. In: WORLD CONGRESS ON GENETICS APPLIED TO LIVESTOCK PRODUCTION, 8., Belo Horizonte, Brazil, 2006. **Anais...** Belo Horizonte: Editor?, 2006. 1 CD-ROM.

SILVA, A. M. da; ALENCAR, M. M. de.; REGITANO, L. C. A.; OLIVEIRA, M. C. S.; BARIONI JÚNIOR, W. Natural infestation of beef cattle females by external parasites in southern Brazil. In: WORLD CONGRESS ON GENETICS APPLIED TO LIVESTOCK PRODUCTION, 8., Belo Horizonte, Brazil, 2006. **Anais...** Belo Horizonte: Editor?, 2006. 1 CD-ROM.

OLIVEIRA, M. C. de S.; REGITANO, L. C. de A.; ALENCAR, M. M. de.; SILVA, A. M. da; OLIVEIRA, H. N. de; NÉO, T. A. Detecção molecular de *Babesia bigemina* em bovinos de diferentes grupos genéticos. In: REUNIAO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 42., 2005, Goiânia. **Anais...** Goiânia: SBZ, 2005. 1 CD-ROM.

REGITANO, L. C. de A. Genética molecular aplicada ao melhoramento. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 42., 2005, Goiânia. **A produção animal e o foco no agronegócio: anais.** Goiânia: SBZ, 2005. p. 241-244.

REGITANO, L. C. de A.; OLIVEIRA, M. C. de S.; ALENCAR, M. M. de; CARVALHO, M. E.; ANDRÉO, R.; MELETI, L. C.; GASPARIN, G.; MIYATA, M.; BARIONI JR., W.; SILVA, A. M. Investigação de marcadores para resistência ao carrapato em bovinos da raça Nelore e seus cruzamentos. In: REUNIÓN DE LA ASOCIACIÓN LATINOAMERICANA DE PRODUCCIÓN ANIMAL, 19., 2005, Local?. **Anais...** Local?: Editor?, 2005. 1 CD-ROM.

SILVA, A. M. da; ALENCAR, M. M. de; REGITANO, L. C. de A.; OLIVEIRA, M. C. de S. Estudo da infestação artificial de carrapatos (*Boophilus microplus*) em fêmeas bovinas de diferentes grupos genéticos. In: REUNIAO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 42., 2005, Goiânia. **Anais...** Goiânia: SBZ, 2005. 1 CD-ROM.

REGITANO, L. C. de A. Importância da genética molecular para o melhoramento de ruminantes. In: SIMPÓSIO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE MELHORAMENTO ANIMAL, 5., 2004, Pirassununga. **Anais...** Pirassununga: Sociedade Brasileira de Melhoramento Animal, 2004. 1 CD-ROM.

SILVA, A. M. da; ALENCAR, M. M. de; REGITANO, L. C. de A.; OLIVEIRA, M. C. de S. Estudo da infestação de fêmeas bovinas de diferentes grupos genéticos por ectoparasitas. In: SIMPÓSIO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE MELHORAMENTO, 5., 2004, Pirassununga. **Anais...** Pirassununga: Sociedade Brasileira de Melhoramento Animal, 2004. 1 CD-ROM.

Resumos simples apresentados em anais de eventos

OLIVEIRA, M. C. de S.; REGITANO, L. C. de A.; ALENCAR, M. M. de; SILVA, A. M.; RUSSO, M. S. S.; RODRIGUES, T. de O.; OLIVEIRA, H. N. Detecção de *Babesia bovis* e *Babesia bigemina* pela técnica de N-PCR em bovinos de diferentes grupos genéticos. In: REUNIÓN DE LA ASOCIACIÓN LATINOAMERICANA DE PRODUCCIÓN ANIMAL, 19., 2005, Local?. **Anais...** Local?: Editor?, 2005. 1 CD-ROM.

OLIVEIRA, M. C. S.; REGITANO, L. C. de A.; ALENCAR, M. M.; SILVA, A. M.; NÉO, T. A.; OLIVEIRA, H. N. Detecção molecular de *Babesia bigemina* em bovinos e em fêmeas de *Boophilus microplus* provenientes da área endêmica do Estado de São Paulo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 32, 2005, Uberlândia. **Anais...** Uberlândia: Editor?, 2005. 1 CD-ROM.

REGITANO, L. C. de A.; CARVALHO, M. E.; MELETI, L. C.; ANDREO, R.; VENERONI, B.; GASPARIN, G. B.; MIYATA, M.; MOREIRA, I. C.; OLIVEIRA, M. C. S.; ALENCAR, M. M.; SILVA, A. M. Caracterização molecular de bovinos cruzados 1/2 Angus + 1/2 Nelore e 1/2 Canchim + 1/2 Nelore. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE GENÉTICA, 51., 2005, Águas de Lindóia. **Anais...** Águas de Lindóia, SBG, 2005. 1 CD-ROM.

OLIVEIRA, M. C. S.; REGITANO, L. C. de A.; ALENCAR, M. M. de; SILVA, A. M. da; SEQUEIRA, T. C. O.; OLIVEIRA, H. N. de. Avaliação molecular da taxa de infecção por *Babesia bovis* e *Babesia bigemina* em bovinos de diferentes grupos genéticos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 13.; SIMPÓSIO LATINO-AMERICANO DE RICKETTSIOSES, 2004, Ouro Preto. **Anais...** Ouro Preto, Editor?, 2004. p. 228-228.

Artigos completos enviados para publicação

SILVA, A. M.; ALENCAR, M. M.; REGITANO, L. C. A.; OLIVEIRA, M. C. S.; BARIONI JR., W. Study of the artificial infestation of *Boophilus microplus* in beef cattle heifers of four genetic groups. **Genetics and Molecular Biology**, 2006. (submetido à publicação)

6. TREINAMENTO DE RECURSOS HUMANOS

Estágios de conclusão de curso com monografia

Lívia Coelho Meleti. Análise molecular dos marcadores BMS670 e ILSTS054: flaqueadores de um gene candidato a resistência bovina a carrapatos – Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas – Unesp, Campus de São José do Rio Preto. 12/2005.

Minos Esperândio de Carvalho. Relatório das atividades desenvolvidas durante o estágio supervisionado do curso de graduação em Zootecnia. 2005. Trabalho de conclusão de curso, Universidade de São Paulo. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – USP.

Michele Russo Stein. Tristeza parasitária bovina e diagnóstico molecular (uma revisão). Monografia de conclusão do curso de Medicina Veterinária apresentada à Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília em 17/01/2005.

Thalita Athiê Néo. Detecção Molecular de *Babesia bigemina* em bovinos de diferentes grupos genéticos. Monografia de conclusão do curso de Ciências Biológicas da UNIARA, que foi apresentada em 13/12/2006, como requisito para conclusão do curso.

Ingritt Carolina Moreira. Marcadores moleculares para resistência ao carrapato *B. microplus* em bovinos cruzados – Monografia de conclusão do curso de Ciências Biológicas da UFSCar. Monografia de conclusão do curso de Ciências Biológicas da Universidade Federal de São Carlos, que será apresentada no segundo semestre de 2006, como requisito para conclusão do curso

Estágios regulares de graduação

Rogério Andreo – Ciências Biológicas, Centro Universitário de Araraquara – UNIARA. Junho de 2003.

Doutorado

Ana Mary da Silva – Programa de Pós-graduação em Genética e Evolução – UFSCar. Defesa de tese em dezembro de 2006.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE, A. B. F.; ALENCAR, M. M.; RAZOOK, A. G.; FIGUEIREDO, L. A.; CYRILLO, J. N. G.; HONÓRIO, Y. M. M. Parâmetros genéticos e fenotípicos de medidas da infestação de fêmeas bovinas da raça Caracu por carrapatos (*Boophilus microplus*). In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 38., 2001, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: SBZ, 2001. p. 575-577.

ANDRADE, A. B. F.; SILVA, R. G.; COSTA, A. J.; ROCHA, U. F.; LANDIM, V. J. C. Genetic and environmental aspects of the resistance of zebu cattle to the tick *Boophilus microplus*. In: WORLD CONGRESS ON GENETICS APPLIED TO LIVESTOCK PRODUCTION, 6, 1998, Armidale, NSW, Austrália. **Proceedings...** Armidale, Editor?, 1998. v. 27. p. 339-342.

BISHOP, S. C.; CHESNAIS, J.; STEAR, M. J. Breeding for disease resistance: issues and opportunities. In: WORLD CONGRESS ON GENETICS APPLIED TO LIVESTOCK PRODUCTION, 7., August 19-23, 2002, Montpellier, France. **Proceedings...** Montpellier: Editor, 2002. 1 CD-ROM?

BOLDMAN, K. G.; KRIESE, L. A.; VAN VLECK, L. D.; VAN TASSEL, C. P.; KACHMAN, S. D. A manual for use of MTDFREML. Clay Center, Nebraska: USDA-ARS, 1993. 120 p.

CALLOW, L. L.; ROGERS, R. J.; VOS, A. J. Standard diagnostic techniques for tick-borne diseases (babesiosis and anaplasmosis) of cattle in Australia. In: AUSTRALIAN AGRICULTURAL COUNCIL. **Standard diagnostic techniques for animal disease**. Canberra: CSIRO, 1986. v. 29. p. 1-9.

CARDOSO, V.; FRIES, L. A.; ALBUQUERQUE, L. G. Determinação da resistência genética a *Boophilus microplus*, através de medidas em diferentes regiões do corpo de bezerras F1 Angus x Nelore desmamados. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 36., Porto Alegre, 1999. **Anais...** Porto Alegre, RS, SBZ, 1999. 1 CD-ROM.

CEN-AGUILAR, J. F.; RODRÍGUEZ-VIVAS, R.I.; DOMÍNGUEZ-ALPIZAR, J. L.; WAGNER, G.G. Studies on the effect of infection by *Babesia* sp. on oviposition of *Boophilus microplus* engorged females naturally infected in Mexican Tropics. **Veterinary Parasitology**, v. 78, p. 253-7, 1998.

CONCEIÇÃO JR., V. Herdabilidade da resistência ao carrapato (*Boophilus microplus*) em bovino de corte. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 38., Fortaleza, CE, 1996. **Anais...** Fortaleza, SBZ, 1996. p. 196-197.

CONSTANT, L. S.; BOTTOMLY, K. Induction of TH1 and TH2 CD4⁺ cell responses: the alternative approaches. **Annual Review of Immunology**, v. 15, p. 297-322, 1997.

FARIA, N. A. **Diagnóstico e controle da tristeza parasitária bovina**. Guaíba: Livraria e Editora Agropecuária, 1995. 80 p.

FIGUEROA, J. V.; CHIEVES, L. P.; JOHNSON, G. S.; BUENING, G. M. Multiplex polymerase chain reaction based assay for the detection of *Babesia bigemina*, *Babesia bovis* and *Anaplasma marginale* DNA in bovine blood. **Veterinary Parasitology**, v. 50, p. 69-81, 1993.

FORERO, S. H.; VERGEL, B. N.; CARDONA, H.; VISCINO, G. O. Observación de vermículos de *Babesia* spp. en hemolinfas y huevos de *Boophilus microplus*. **Revista Acoves.**, v. 10, p. 4-9, 1986.

FRAGA, A. B.; ALENCAR, M. M.; FIGUEIREDO, L. A.; RAZOOK, A. G.; CYRILLO, J. N. S. G. Análise de fatores genéticos e ambientais que afetam a infestação de fêmeas bovinas da raça Caracu por carrapato (*Boophilus microplus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 32, n. 6, p. 1578-1586, 2003 (supl.).

GAIDO, A. B.; GUGLIELMONE, A. A. Infections dynamics of *Babesia* spp. kinetes in naturally infected, engorged, female *Boophilus microplus*. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, v. 89, p. 309-11, 1995.

GASPARIN, G.; MIYATA, M.; COUTINHO, L. L.; MARTINEZ, M. M.; MACHADO, M. A.; SILVA, M. V. G. B.; CAMPOS, A. L.; SONSTEGARD, T. S.; REGITANO, L. C. A. Detection of a QTL associated with tick resistance on bovine chromosome 7 (BTA 7) using a F2 experimental population. In: WORLD CONGRESS ON GENETICS APPLIED TO LIVESTOCK PRODUCTION, 8., Belo Horizonte, 2006. **Proceedings...** Belo Horizonte, Editor?, 2006a. 1 CD-ROM.

GASPARIN, G.; MIYATA, M.; COUTINHO, L. L.; MARTINEZ, M. M.; MACHADO, M. A.; SILVA, M. V. G. B.; CAMPOS, A. L.; REGITANO, L. C. A.. Detection of a highly significant qtl for tick resistance on bovine chromosome 5 (BTA5) using a F2 experimental population. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON ANIMAL GENETICS, Porto Seguro, 2006. Section D: Genetic Markers and Selection. **Proceedings.....** Porto Seguro, Brazil, Editor?, 2006b. 1 CD-ROM.

GOMES, A. Resistência a infestação natural por larvas, ninfas e adultos de *Boophilus microplus* em vacas zebuínas da raça Gir, em função de sua idade, da gestação, da lactação e da seleção para produção leiteira, com e sem tratamento carrapaticida, ao longo de 12 estações consecutivas de um triênio. 1992. 90 p. Tese (Doutorado em Ciência) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 1992.

GONZALES, J. C. **O controle do carrapato do boi**. Porto Alegre: Edição do Autor, 1993. 80 p.

GUGLIELMONE, A. A.; GAIDO, A. B.; MANGOLD, A. J. Light microscopy diagnosis of *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* kinetes in the haemolymph of artificially infected *Boophilus microplus* engorged female ticks. **Veterinary Parasitology**, v. 61, p 15-20, 1996.

HODGSON, J. H. Biology and transmission of *Babesia bigemina* in *Boophilus microplus*. **Annals of the New York Academy of Science**, v. 653, p. 42-51, 1992.

JAIN, N. C. **Essentials of Veterinary Hematology**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. 417 p.

KAKOMA, I.; MELHORN, H. Babesia of domestic animals. In: KREIER, J. P. (Ed). **Parasitic protozoa**. Local?: Academic Press, 1994. p. 141-216.

KEMP, S. J.; IRAQI, F.; DARVASI, A.; SOLLER, M.; TEALE, A. J. Localization of genes controlling resistance to trypanosomiasis in mice. **Nature Genetics**, v. 16, n. 2, p. 194-196, 1997.

KESSLER, R. H.; MADRUGA, C. R.; SCHENK, M. A. M.; RIBEIRO, O. C. Babesiose cerebral por *Babesia bovis* (Babés 1888, Starcovici, 1893) em bezerras, no Estado do Mato Grosso do Sul. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 18, p. 931-35, 1983.

KUTTLER, K. L. **Chemotherapy of babesiosis: A review** In: RISTIC, M.; KREIER, J. P. (Eds.). Babesiosis. Local?: Academic Press, 1981, p. 65-86.
LEMOES, A. M.; TEODORO, R. L.; OLIVEIRA, G. P., MADALENA, F. E. Comparative performance of six Holstein-Friesian x Guzará in Brasil. 3. Burdens of *Boophilus microplus* under field conditions. **Animal Production**, v. 41, p. 187-191, 1985.

MACKINNON, M. J.; MEYER, K.; HELTZEL, D. J. S. Genetic variation and covariation for growth, parasite resistance and heat tolerance in tropical cattle. **Livestock Production Science**, v. 27, p. 105-122, 1991.

MADRUGA, C. R. **Tristeza parasitária: Babesiose e anaplasmoses**. Embrapa, Centro Nacional de Pesquisa em Gado de Corte, Sanidade Animal. Embrapa, CNPGC. Circular técnica, 15, p. 18-27, 1984.

MAHONEY, D. F.; ROSS, D. R. Epizootiological factors in the control of bovine babesiosis. **Australian Veterinary Journal**, v. 48, p. 292-8, 1972.

MELLENDEZ, R. D.; FORLANO, M. Incidence and intensity of *Babesia* spp. sporokinetes in engorged *Boophilus microplus* from a dairy herd in Venezuela. **Annals of the New York Academy of Science**, v. 791, p. 148-56, 1996.

MONTENEGRO-JAMES, S.; JOHNSON, W. C.; GOFF, W. L. Development of conventional subunit vaccines for anaplasmosis and babesiosis. **Veterinary Parasitology**, v. 57, p. 255-266, 1995.

MORAES, F. R.; COSTA, A. J.; WOELZ, C. R.; MORAES, J. R. E.; ROCHA, U. F. Ecologia de carrapatos. XV. Suscetibilidade natural comparativa entre taurinos e zebuínos a *Boophilus microplus* (Canestrini) (Acari, Ixodidae). **Ars Veterinária**, v. 2. n. 1, p. 45-52, 1986.

NAKATA, L. C.; ZAROS, L. G.; OLIVEIRA, M. C. S.; COUTINHO, L. C.; REGITANO, L. C. A. Quantitative analysis of bovine cytokine mRNA levels in response to tick infestation. In: WORLD CONGRESS ON GENETICS APPLIED TO LIVESTOCK PRODUCTION, 8., Belo Horizonte, Brazil, August, 2006. **Proceedings...** Belo Horizonte: Editor?, 2006. 1 CDROM.

OLIVEIRA, G. P.; ALENCAR, M. M. Resistência de bovinos ao carrapato *Boophilus microplus*. I. Infestação artificial. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, DF, v. 22, n. 4, p. 433-438, 1987.

OLIVEIRA, G. P.; ALENCAR, M. M.; FREITAS, A. R. Resistência de bovinos ao carrapato *Boophilus microplus*. II. Infestação natural. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v. 24, n. 10, p. 1267-1271, 1989.

OLIVEIRA, M. C. S.; OLIVEIRA-SEQUEIRA, T. C.; ARAUJO JR., J. P.; AMARANTE, A. F. T.; OLIVEIRA, H. N. *Babesia* spp. infection in *Boophilus microplus* engorged females and eggs in São Paulo State, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 130, p. 61-67, 2005.

OLIVEIRA-SEQUEIRA, T. C.; OLIVEIRA, M. C. S.; ARAUJO JR., J. P.; AMARANTE, A. F. T. PCR-based detection of *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* in their natural host *Boophilus microplus* and cattle. **International Journal for Parasitology**, v. 35, p. 105-111, 2005.

PALMER, G. H.; McELWAIN, T. F. Molecular basis for vaccine development against anaplasmosis and babesiosis. **Veterinary Parasitology**, v. 57, p. 233-253, 1995.

REGITANO, L. C. A. Extração de DNA para aplicação em reação de cadeia da polimerase. In: REGITANO, L. C. A.; COUTINHO, L. L. (Eds.). **Biologia molecular aplicada à produção animal**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2001. p. 179-186.

SAS Institute Inc. **SAS/STAT**. User's Guide, version 6.11, 4 ed., v. 2. Cary: SAS Institute Inc., 1996. 842 p.

TEODORO, R. L.; LEMOS, A. M.; MADALENA, F. E. Resistência genética de bovinos as infestações de carrapatos (*Boophilus microplus*, Canestrini). VI. Resistência de touros mestiços sob infestação artificial. In: REUNIÃO ANUAL DA SBZ, 1984, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte, SBZ, 1984. p. 55.

UTECH, K. B. W.; SEIFERT, G. W.; WHARTON, R. H. Breeding Australian Illawarra Shorthorn cattle for resistance to *Boophilus microplus*. I. Factor affecting resistance. **Australian Journal Agriculture Research**, v. 29, p. 411-422, 1978.

VERÍSSIMO, C. J.; SILVA, R. G.; OLIVEIRA, A. A. D.; RIBEIRO, W. R.; ROCHA, U. F. Resistência e suscetibilidade de bovinos leiteiros mestiços ao carrapato *Boophilus microplus*. **Boletim de Indústria Animal**, v. 54. n. 2, p. 1-10, 1997.

WHARTON, R. H.; UTECH, K. B. W.; TURNER, H. G. Resistance to the cattle tick *Boophilus microplus* in a herd of Australian Illawarra Shorthorn cattle: Its assessment and heritability. **Australian Journal of Agriculture Research**, v. 21, p. 163-181, 1970.

YERUHAM, I.; HADANI, A.; GALKER, F. The effect of the ovine host parasitaemia on the development of *Babesia ovis* (Babes, 1892) in the tick *Rhipicephalus bursa* (Canestrini and Fanzago, 1877). **Veterinary Parasitology**, v. 96, p.195-202, 2001.